FLEX
Polyclonal Rabbit
Anti-Human
Chromogranin A
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Code IS502

ENGLISH

Intended use

For in vitro diagnostic use.

FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Chromogranin A, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), is intended for use in immunohistochemistry together with Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments. This antibody labels chromogranin A present in secretory granules of endocrine cells (1). Chromogranin A is a marker for neuroendocrine differentiation and antibodies to chromogranin A are useful for identification of neuroendocrine-derived tumors. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Summary and explanation

Chromogranin A is a protein prohormone with a molecular mass of 48 kDa. The gene encoding the 439 amino acids protein is localized on chromosome 14 (2-4). Potentially biologically active peptides derived from chromogranin A are: Vasostatins (aa 1-17/113), chromostatin (aa 124-143), chromacins (aa 173-194), pancreastatin (aa 243-294), WE-14 (aa 316-329), catestatin (aa 344-364), parastatin (a 347-419) and GE-25 (aa 367-391) (2). Chromoranin A was first isolated from chromaffin cells in the adrenal medulla but was later found to be present in secretory granules in cells of most neuroendocrine organs. Since then it has been used as an important broadspectrum histochemical marker for the identification of neuroendocrine cells and tumors (2, 5, 6).

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

Reagent provided

Ready-to-use polyclonal rabbit antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide.

Immunogen

Chromogranin A isolated from urine of patients with carcinoid syndrome.

Specificity

The antibody reacts with human chromogranin A, but not with epitopes located on the N-terminal half of the chromogranin A molecule. The antibody labels the neuroendocrine cells and neural tissue in colon, pancreas and peripheral nerve tissue. No non-specific staining has been observed. Traces of contaminating antibodies have been removed by solid-phase absorption with human urine proteins.

As demonstrated by immunohistochemistry on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections, the antibody cross-reacts with the chromogranin A-equivalent protein in cow, horse and swine.

Precautions

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN_3), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store at 2-8 ℃. Do not use after expiration date sta mped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation including materials required but not supplied

The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.

Pre-treatment with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required using Dako PT Link (Code PT100/PT101). For details, please refer to the PT Link User Guide. Optimal results are obtained by pretreating tissues using EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004).

Paraffin-embedded sections: Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using the 3-in-1 specimen preparation procedure for Dako PT Link. Follow the pre-treatment procedure outlined in the package insert for EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004). Note: After staining the sections must be dehydrated, cleared and mounted using permanent mounting medium.

Deparaffinized sections: Pre-treatment of deparaffinized formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using Dako PT Link and following the same procedure as described for paraffin-embedded sections. After staining the slides should be mounted using aqueous or permanent mounting medium.

The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020) is recommended.

Staining procedure including materials required but not supplied

The recommended visualization system is EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8010). The staining steps and incubation times are pre-programmed into the software of Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments, using the following protocols:

Template protocol: FLEXRTU2 (200 µL dispense volume) or FLEXRTU3 (300 µL dispense volume)

Autoprogram: CGA (without counterstaining) or CGAH (with counterstaining)

The Auxiliary step should be set to "rinse buffer" in staining runs with ≤10 slides. For staining runs with >10 slides the Auxiliary step should be set to "none". This ascertains comparable wash times.

All incubation steps should be performed at room temperature. For details, please refer to the Operator's Manual for the dedicated instrument. If the protocols are not available on the used Dako Autostainer instrument, please contact Dako Technical Services.

Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation methods, and should be determined by each individual laboratory. If the evaluating pathologist should desire a different staining intensity, a Dako Application Specialist/Technical Service Specialist can be contacted for information on re-programming of the protocol. Verify that the performance of the adjusted protocol is still valid by evaluating that the staining pattern is identical to the staining pattern described in "Performance characteristics".

Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8018). Non-aqueous, permanent mounting medium is recommended.

Positive and negative controls should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include colon and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in "Performance characteristics" in all positive specimens. The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Rabbit, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code IS600).

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display a cytoplasmic, granular staining pattern.

Performance characteristics

Normal tissues: The antibody labels neuroendocrine cells when tested in colon, ventricle, adrenal medulla. The antibody also labels endocrine cells in islets of Langerhans. The neuroendocrine cells in the epithelial surface of colon show a moderate to strong staining reaction, whereas the axons of peripheral nerves in the colon tunica muscularis show a weak to moderate staining reaction.

Abnormal tissues: The antibody labeled 24/24 phaeochromocytomas, 4/4 paragangliomas, 6/6 medulla carcinomas of thyroid, 7/7 carcinoid tumors, 2/7 neuroblastoma, 4/7 islet cell tumors of pancreas and 0/7 adrenocortical tumors (1).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique *in vitro.*

FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Chromogranin A, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) est destiné à une utilisation en immunohistochimie avec les instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus. Cet anticorps marque la chromogranine A présente dans les granules de sécrétion des cellules endocrines (1). La chromogranine A est un marqueur de la différenciation neuroendocrine. Les anticorps dirigés contre la chromogranine A sont utiles pour l'identification des tumeurs neuroendocrines. L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Résumé et explication

La chromogranine A est une protéine pro-hormone d'un poids moléculaire de 48 kDa. Le gène codant pour la protéine de 439 acides aminés est localisé sur le chromosome 14 (2-4). Les peptides potentiellement actifs d'un point de vue biologique dérivés de la chromogranine A sont : les vasostatines (aa 1-17/113), la chromostatine (aa 124-143), les chromacines (aa 173-194), la pancréastatine (aa 43-294), le WE-14 (aa 316-329), la catéstatine (aa 344-364), la parastatine (aa 347-419) et le GE-25 (aa 367-391) (2). La chromogranine A a été isolée pour la première fois à partir de cellules chromaffines de la médullosurrénale mais a été ensuite retrouvée dans les granules de sécrétion des cellules de la plupart des organes neuroendocrines. Depuis, elle est utilisée comme un important marqueur histochimique à large spectre pour l'identification des cellules et des tumeurs neuroendocrines (2,5,6).

Se référer aux *Instructions générales de coloration immunohistochimique* de Dako ou aux instructions du système de détection relatives aux procédures IHC pour plus d'informations concernant les points suivants : 1) Principe de procédure, 2) Matériels requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

Réactifs fournis

Anticorps polyclonal de lapin prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.

Immunogène

Chromogranine A isolée à partir d'urine de patients atteints de syndrome carcinoïde.

Spécificité

L'anticorps réagit à la chromogranine A humaine mais pas aux épitopes localisés sur l'extrémité N-terminale de la molécule de chromogranine A. L'anticorps marque les cellules neuroendocrines et le tissu neural trouvé dans le côlon et le pancréas, ainsi que le tissu nerveux périphérique. Aucune coloration non spécifique n'a été observée. Les traces d'anticorps contaminants ont été éliminées par absorption en phase solide en utilisant des protéines de plasma humain.

Comme le démontre l'analyse immunohistochimique de coupes de tissu fixé au formol et inclus en paraffine, l'anticorps présente une réaction croisée avec la protéine homologue à la chromogranine A chez les bovins, les chevaux et les porcs.

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN_3), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conserver entre 2 et 8 ℃. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons y compris le matériel requis mais non fourni

L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus inclus en paraffine et fixés au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons de tissu doit être d'environ 4 µm.

Un prétraitement avec démasquage d'épitope induit par la chaleur (HIER) est nécessaire avec le Dako PT Link (Réf. PT100/PT101). Pour plus de détails, se référer au Guide d'utilisation du PT Link. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus à l'aide de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004).

Coupes incluses en paraffine : le prétraitement des coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine est recommandé à l'aide de la procédure de préparation d'échantillon 3-en-un pour le Dako PT Link. Suivre la procédure de prétraitement indiquée dans la notice de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004). Remarque : après coloration, les coupes doivent être déshydratées, lavées et montées à l'aide d'un milieu de montage permanent.

Coupes déparaffinées : le prétraitement des coupes tissulaires déparaffinées, fixées au formol et incluses en paraffine, est recommandé à l'aide du Dako PT Link, en suivant la même procédure que pour les coupes incluses en paraffine. Après coloration, un montage aqueux ou permanent des lames est recommandé.

Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des lames FLEX IHC Microscope Slides (Réf. K8020).

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Procédure de coloration y compris le matériel requis mais non fourni

Le système de visualisation recommandé est le EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8010). Les étapes de coloration et d'incubation sont préprogrammées dans le logiciel des instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus, à l'aide des protocoles suivants :

Protocole modèle : FLEXRTU2 (volume de distribution de 200 µL) ou FLEXRTU3 (volume de distribution de 300 µL)

Autoprogram : CGA (sans contre-coloration) ou CGAH (avec contre-coloration)

L'étape Auxiliary doit être réglée sur « rinse buffer » lors des cycles de coloration avec ≤10 lames. Pour les cycles de coloration de >10 lames, l'étape Auxiliary doit être réglée sur « none ». Cela garantit des temps de lavage comparables.

Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante. Pour plus de détails, se référer au Manuel de l'opérateur spécifique à l'instrument. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur l'instrument Dako Autostainer utilisé, contacter le service technique de Dako.

Les conditions optimales peuvent varier en fonction du prélèvement et des méthodes de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Si le pathologiste qui réalise l'évaluation désire une intensité de coloration différente, un spécialiste d'application/spécialiste du service technique de Dako peut être contacté pour obtenir des informations sur la re-programmation du protocole. Vérifier que l'exécution du protocole modifié est toujours valide en vérifiant que le schéma de coloration est identique au schéma de coloration décrit dans les « Caractéristiques de performance ».

Il est recommandé d'effectuer une contre-coloration à l'aide de EnVision(FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8018). L'utilisation d'un milieu de montage permanent non aqueux est recommandée.

Des contrôles positifs et négatifs doivent être réalisés en même temps et avec le même protocole que les échantillons du patient. Le contrôle de tissu positif doit comprendre le côlon et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction tels que décrits pour ces tissus dans les « Caractéristiques de performance » pour tous les échantillons positifs. Le contrôle négatif recommandé est le FLEX Negative Control, Rabbit, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. IS600).

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent un motif de coloration cytoplasmique granulaire.

Caractéristiques de performance

Tissus sains : L'anticorps marque les cellules neuroendocrines lorsqu'il est testé sur le côlon, le ventricule et la médullosurrénale. L'anticorps marque également les cellules endocrines des îlots de Langerhans. Les cellules neuroendocrines de la surface épithéliales du côlon indiquent une coloration modérée à forte, tandis que la coloration des axones des nerfs périphériques de la tunica muscularis du côlon est faible à modérée.

Tissus tumoraux : L'anticorps a marqué 24 cas sur 24 de phéochromocytome, 4 cas sur 4 de paragangliome, 6 cas sur 6 de carcinome médullaire de la thyroïde, 7 cas sur 7 de tumeur carcinoïde, 2 cas sur 7 de neuroblastome, 4 cas sur 7 de tumeur des cellules des îlots pancréatiques et 0 cas sur 7 de tumeur de la corticosurrénale (1).

DEUTSCH

Zweckbestimmung

Zur In-vitro-Diagnostik.

FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Chromogranin A, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) ist zur Verwendung in der Immunhistochemie in Verbindung mit Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräten bestimmt. Dieser Antikörper markiert in den Sekretgranula endokriner Zellen vorkommendes Chromogranin A (1). Chromogranin A ist ein Marker für die neuroendokrine Differenzierung, und Antikörper gegen Chromogranin A dienen zur Identifizierung von neuroendokrinenTumoren. Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit ordnungsgemäßen Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten vorgenommen werden.

Zusammenfassung und Erklärung

Chromogranin A ist ein Proteinhormon mit einem Molekulargewicht von 48 kDa. Das Gen, das das Protein aus 439 Aminosäuren kodiert, befindet sich auf Chromosom 14 (2–4). Zu den potenziell biologisch aktiven, von Chromogranin A abgeleiteten Peptiden gehören: Vasostatin (aa 1–17/113), Chromostatin (aa 124–143), Chromacin (aa 173–194), Pancreastatin (aa 243–294), WE-14 (aa 316–329), Catestatin (aa 344–364), Parastatin (aa 347–419) und GE-25 (aa 367–391) (1). Chromogranin A wurde ursprünglich aus den chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks isoliert. Später fand man jedoch heraus, dass es auch in Sekretgranula in den Zellen der meisten neuroendokrinen Organe vorkommt. Seitdem wird es als wichtiger Breitspektrum-Marker in der Histochemie zur Identifizierung von neuroendokrinen Zellen und Tumoren verwendet (2, 5, 6).

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako oder den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzip, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlersuche und -behebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Gebrauchsfertiger polyklonaler Kaninchen-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0,015 mol/L Natriumazid enthält.

Immunogen

Chromogranin A wird aus dem Urin von Patienten mit Karzinoidsyndrom gewonnen.

Spezifität

Der Antikörper reagiert mit menschlichem Chromogranin A, jedoch nicht mit Epitopen auf der N-terminalen Hälfte des Chromogranin-A-Moleküls. Der Antikörper markiert die neuroendokrinen Zellen und das Nervengewebe in Darm, Pankreas und peripherem Nervengewebe. Es wurde keine unspezifische Färbung beobachtet. Spuren von Verunreinigungen durch Antikörper wurden durch Festphasen-Absorption mit Humanurinproteinen entfernt.

Durch immunhistochemische Untersuchungen an formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten wurde eine Kreuzreaktivität dieses Antikörpers mit dem Chromogranin-A-äquivalenten Protein von Rind, Pferd und Schwein nachgewiesen**.**

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN_3), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Natriumazid kann auch in als ungefährlich eingestuften Konzentrationen mit Blei- und Kupferrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Metallazidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2–8 ℃ aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschch en aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer validiert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei

Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Vorbereitung der Probe und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

Die Vorbehandlung durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER) mit Dako PT Link (Code-Nr. PT100/PT101) ist erforderlich. Weitere Informationen hierzu siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Optimale Ergebnisse können durch Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004) erzielt werden.

Paraffineingebettete Schnitte: Die Vorbehandlung der formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitte mit dem 3-in-1-Probenvorbereitungsverfahren für Dako PT Link wird empfohlen. Vorbehandlung gemäß der Beschreibung in der Packungsbeilage für EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004) durchführen. Hinweis: Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und mit permanentem Einbettmedium auf den Objektträger aufgebracht werden.

Entparaffinierte Schnitte: Eine Vorbehandlung der entparaffinierten, formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitte mit Dako PT Link nach demselben Verfahren, wie für die paraffineingebetteten Schnitte beschrieben, wird empfohlen. Die Objektträger nach dem Färben mit einem wässrigen oder permanenten Einbettmedium bedecken.

Die Gewebeschnitte dürfen während der Behandlung oder des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern wird die Verwendung von FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen.

Färbeverfahren und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Das empfohlene Visualisierungssystem ist EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus)(Code-Nr. K8010). Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Software der Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräte mit den folgenden Protokollen vorprogrammiert:

Matrix-Protokoll: FLEXRTU2 (200 µL Abgabevolumen) oder FLEXRTU3 (300 µL Abgabevolumen)

Autoprogram: CGA (ohne Gegenfärbung) oder CGAH (mit Gegenfärbung)

Bei Färbedurchläufen mit höchstens 10 Objektträgern sollte der „Zusatz"-Schritt auf „Pufferspülgang" eingestellt werden. Für Färbedurchläufe mit mehr als 10 Objektträgern den „Zusatz"-Schritt auf „Keine" einstellen. Dieses gewährleistet vergleichbare Waschzeiten.

Alle Inkubationsschritte sollten bei Raumtemperatur durchgeführt werden. Nähere Einzelheiten bitte dem Benutzerhandbuch für das jeweilige Gerät entnehmen. Wenn die Färbeprotokolle auf dem verwendeten Dako Autostainer-Gerät nicht verfügbar sind, bitte den Technischen Kundendienst von Dako verständigen.

Optimale Bedingungen können je nach Probe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Falls der beurteilende Pathologe eine andere Färbungsintensität wünscht, kann ein Anwendungsspezialist oder Kundendiensttechniker von Dako bei der Neuprogrammierung des Protokolls helfen. Die Leistung des angepassten Protokolls muss verifiziert werden, indem gewährleistet wird, dass das Färbemuster mit dem unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Färbemuster identisch ist.

Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8018) ausgeführt werden. Empfohlen wird ein nichtwässriges, permanentes Fixiermittel.

Positiv- und Negativkontrollen sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientenproben getestet werden. Das positive Kontrollgewebe muss Dickdarmzellen enthalten, und die Zellen/Strukturen müssen in allen positiven Proben die für dieses Gewebe unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene negative Kontrollreagenz ist FLEX Negative Control, Rabbit (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. IS600).

Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen eine zytoplasmatische, granuläre Färbung auf.

Leistungsmerkmale

Gesundes Gewebe: Der Antikörper markiert bei Tests im Darm, Ventrikel und Nebennierenmark neuroendokrine Zellen. Der Antikörper markiert auch endokrine Zellen in Langerhans'schen Inseln. Die neuroendokrinen Zellen in der Epitheloberfläche des Dickdarms zeigen eine mäßige bis starke Färbereaktion, während die Axone der peripheren Nerven in der Tunica muscularis des Dickdarms nur eine schwache bis mäßige Färbereaktion zeigen.

Pathologisches Gewebe: Der Antikörper markierte 24 von 24 Phaeochromozytomen, 4 von 4 Paragangliomen, 6 von 6 medullären Schilddrüsenkarzinomen, 7 von 7 Karzinoiden, 2 von 7 Neuroblastomen, 4 von 7 Inselzelltumoren des Pankreas und 0 von 7 Nebennierenrindentumoren (1).

References/ Références/ Literatur

1. Moorghen M, Carpenter F. Peanut lectin: a histochemical marker for phaeochromocytomas. Virchows Arch A Pathol Anal Histopathol 1991; 419:203-7.
2. Portela-Gomes GM. Chromogranin A immunoreactivity in neuroendocrine cells in the human gastrointestinal tract and pancreas. Adv Exp Med Biol 2000;482:193-203.
3. Konecki DS, Benedum UM, Gerdes H-H, Huttner WB. The primary structure of human chromogranin A and pancreastatin. J Biol Chem 1987; 262:17026-30.
4. Murray SS, Deaven LL, Burton DW, O'Connor DT, Mellon PL, Deftos LJ. The gene for human chromogranin A (CgA) is located on chromosome 14. Biochem Biophys Res Comm 1987; 142:141-6.
5. Lloyd RV, Cano M, Rosa P, Hille A, Huttner WB. Distribution of chromogranin A and secretogranin I (chromogranin B) in neuroendocrine cells and tumors. Am J Pathol 1988; 130:296-304.
6. Degorce F. Assessment of Chromogranin A using two-site immunoassay. Selection of a monoclonal antibody pair unaffected by human Chromogranin A processing. Adv Exp Med Biol 2000;482:339-50.

Explanation of symbols/ Explication des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF Catalogue number Référence catalogue Bestellnummer	2 °C – 8 °C Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	Use by Utiliser avant Verwendbar bis
IVD In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	Σ Contains sufficient for <n> tests Contenu suffisant pour <n> tests Inhalt ausreichend für <n> Tests	Manufacturer Fabricant Hersteller
Consult instructions for use Voir les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	LOT Batch code Numéro de lot Chargenbezeichnung	

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17